

0031703403985  
**TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS**

Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
 L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

Mme Lapeudry, Thérèse  
 Cabinet Lapeudry  
 43, rue de la Brèche aux Loups  
 F-75008 Paris  
 FRANCE

**PCT**

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU  
 RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE  
 INTERNATIONAL  
 (règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition  
 (jour/mois/année)

08.02.2002

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
 BLOcp644/46P

**NOTIFICATION IMPORTANTE**

Demande internationale No.  
 PCT/FR00/02336

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
 18/08/2000

Date de priorité (jour/mois/année)  
 19/08/1999

Déposant

INSTITUT PASTEUR DE LILLE et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.
2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau International pour communication à tous les offices élus.
3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau International établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

**4. RAPPEL**

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau International dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen  
 préliminaire international



Office européen des brevets  
 D-80298 Munich  
 Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
 Fax: +49 89 2399 - 4465

Fonctionnaire autorisé

Gallego, A

Tél. +49 89 2399-8102



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

10/049955

Applicant's or agent's file reference TL/CHB10476/503	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR00/02336	International filing date (day/month/year) 18 August 2000 (18.08.00)	Priority date (day/month/year) 19 August 1999 (19.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 1/00		
Applicant INSTITUT PASTEUR DE LILLE		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.  <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 March 2001 (16.03.01)	Date of completion of this report 23 November 2001 (23.11.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP  Facsimile No.	Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/02336

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages 1-6,8-22, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages 7, filed with the letter of 25 October 2001 (25.10.2001),  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. 1-10, filed with the demand,  
Nos. 11-14,16,17, filed with the letter of 25 October 2001 (25.10.2001),  
Nos. 15, filed with the letter of 08 November 2001 (08.11.2001).
- ☐ the drawings, sheets/fig 1/6-6/6, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.

1. The present application does not meet the requirements of **PCT Rule 13** for the following reasons:

Although **Claim 17** of the present application includes a reference to **Claim 5**, it does not enable dependence between said two claims to be established. For this reason, **Claim 17** remains independent and the objection of lack of unity of the application is maintained as follows:

There is no common link between **Claims 1-16** (concerning peptide-hydrazides, the methods for preparing same and the therapeutic uses of same) and **Claim 17** (concerning the use of N,N'-tri(Boc)hydrazinoacetic acid or N,N'-di(Boc)hydrazinoacetic acid in the preparation of peptide-hydrazines). These two inventions are distinct insofar as they appear to solve different types of problems, namely a pharmacological problem and a chemical synthesis problem.

Thus, the following inventions are considered not to have a common general concept:

**Claims 1-16** concern peptide-hydrazide derivatives, the preparation of same and the use of same in the preparation of vaccines or of a diagnostic reagent.

**Claim 17** concerns the use of a reagent for preparing peptide-hydrazines, which are intermediates in the synthesis of peptide-hydrazides.

Moreover, the applicant's attention is drawn to the fact that a true dependence between **Claim 17** and **Claim 5** would render **Claim 17** equivalent and

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.  
PCT/FR 00/02336

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.

therefore redundant to Claim 6 of the present  
application.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.  
PCT/FR 00/02336**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****1. Reference is made to the following documents:**

- D1: JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH, vol. 52, no. 9, 1998, pages 180-184: cited in the application
- D2: TETRAHEDRON LETTERS, vol. 37, no. 40, 1996, pages 7259-7263: cited in the application
- D3: JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH, vol. 54, no. 9, October 1999 (1999-10), pages 270-278
- D4: TETRAHEDRON LETTERS, vol. 41, 2000 (2000-01), pages 45-48
- D5: PROC. EUR. PEPT. SYMP., 25<sup>TH</sup> MEETING DATE 30-8 TO 6-9-1998. EDITORS: S. BAJUSZ & F. HUDECZ, 1999, pages 108-109

Although **D4** is not part of the prior art according to the PCT, insofar as said document was accessible to the public on a date between the duly claimed priority date (06.12.1999) and the filing date of the application (18.08.2000), the IPEA gives notice that it will no longer be part of the prior art according to **EPC Article 54(2)** when it enters the regional phase.

**2. Novelty (PCT Article 33(2)):**

**D2** (page 7259, compound 5) describes a peptide

carrying an acetylated hydrazide group on the epsilon amine of a lysine in the N-terminal position of the peptide.

D1 and D5 describe hydrazone peptides whereas D3 describes hydrazine peptides. For this reason, the novelty of **Claims 1-16** of the application is not affected by said documents.

Moreover, the applicant is informed that the subject matter of **Claim 17** may be considered to be novel in view of the documents cited, as was indicated in the first communication.

3. **Inventive step (PCT Article 33(3)):**

D2, which is the closest prior art, concerns the preparation of peptide-hydrazones so that modified peptides can be transported through the cytoplasmic membrane of intact cells. The products of the present application differ from D2 by the nature of the group modifying the peptide, which is a **hydrazide** group.

The problem to be solved by the present application consists in preparing modified peptides in such a way as to facilitate their transport into the cell. As the applicant has argued, the specific teaching of D2 relates to a method of hydrazone ligation in solution, between a peptide and an aldehyde. As the formation of hydrazide derivatives, such as the compound 5 of D2, is not the aim of said document, but an intermediate step in the formation of hydrazone bonds, a person skilled in the art would not be expected to use the teaching of D2 to form hydrazide peptide derivatives with the aim of transporting a peptide into a cell. It is recognized that in so doing, a person skilled in the art would be taking an inventive step.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/FR 00/02336

For this reason, **Claims 1-16** of the present application satisfy the requirements of **PCT Article 33(3)**.

Since the subject matter of **Claim 18** has not been disclosed or suggested in the cited documents, said claim meets the requirements of **PCT Article 33(3)**.



PCT

REC'D 27 NOV 2001

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL PCT

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BLOcp644/46P	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/02336	Date du dépôt international (jour/mois/année) 18/08/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 19/08/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K1/00		
Déposant INSTITUT PASTEUR DE LILLE et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.



2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.

☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 3 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☒ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 16/03/2001	Date d'achèvement du présent rapport 23.11.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Hennard, C N° de téléphone +49 89 2399 7355 

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02336

**I. Base du rapport**

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

**Description, pages:**

1-6,8-22	version initiale			
7	reçue(s) le	25/10/2001	avec la lettre du	25/10/2001

**Revendications, N°:**

1-10	version initiale			
11-14,16,17	reçue(s) le	25/10/2001	avec la lettre du	25/10/2001
15	reçue(s) le	08/11/2001	avec la lettre du	08/11/2001

**Dessins, feuilles:**

1/6-6/6	version initiale
---------	------------------

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02336

- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**IV. Absence d'unité de l'invention**

1. En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a

- ☐ limité les revendications.
- ☐ payé des taxes additionnelles.
- ☐ payé des taxes additionnelles sous réserve.
- ☐ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.

2. ☒ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.

3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,

- ☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
- ☐ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :

4. En conséquence, les parties suivantes de la demande internationale ont fait l'objet d'un examen préliminaire international lors de la formulation du présent rapport :

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/02336

- ☐ toutes les parties de la demande.
- ☐ les parties relatives aux revendications n<sup>os</sup> .

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications 1-17
	Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-17
	Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-17
	Non : Revendications

**2. Citations et explications  
voir feuille séparée**

**Concernant le point IV****Absence d'unité de l'invention**

1. La présente demande ne remplit pas les conditions requises par la **Règle 13 du PCT** pour les raisons suivantes :

Bien que la **revendication 17** de la présente demande comporte une référence à la **revendication 5**, celle-ci ne permet pas d'établir de dépendance entre ces deux revendications. De ce fait, la **revendication 17** reste indépendante et l'objection de manque d'unité de la demande est maintenue comme suit :

Il n'y a pas de lien commun entre les **revendications 1-16** (concernant des peptides-hydrazides, leurs procédés pour les préparer et leurs applications thérapeutiques) d'une part et la **revendication 17** (concernant l'utilisation de l'acide N,N'-tri(Boc)hydrazinoacétique ou l'acide N,N'-di(Boc)hydrazinoacétique lors de la préparation de peptides-hydrazines) d'autre part. Ces deux inventions sont distinctes dans la mesure où elles tendent à résoudre des problèmes de nature différentes, à savoir un problème de pharmacologie et un problème de synthèse chimique.

De fait, les inventions suivantes sont considérées ne pas avoir de concept général en commun :

**Revendications 1-16** concernent les dérivés peptides-hydrazides, leur préparation et leur utilisation dans la préparation de vaccins ou de réactif de diagnostic.

**Revendication 17** concerne l'utilisation d'un réactif afin de préparer les peptides-hydrazines, intermédiaires de la synthèse des peptides-hydrazides. ...

De plus, l'attention de la Demanderesse est attirée sur le fait qu'une vraie dépendance entre la **revendication 17** et la **revendication 5** rendrait la **revendication 17** équivalente et donc redondante à la **revendication 6** de la présente demande.

**Concernant le point V**

**Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

2. Il est fait référence aux documents suivants :

D1: JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH., vol. 52, no. 9, 1998, pages 180-184 :

cité dans la demande

D2: TETRAHEDRON LETTERS, vol. 37, no. 40, 1996, pages 7259-7263 : cité dans la demande

D3: JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH., vol. 54, no. 9, octobre 1999 (1999-10), pages 270-278

D4: TETRAHEDRON LETTERS, Vol. 41, 2000 (2000-01), pages 45 - 48

D5: PROC. EUR. PEPT. SYMP., 25TH MEETING DATE 30-8 TO 6-9-1998. EDITORS: S. BAJUSZ & F. HUDECZ, 1999, pages 108-109

Bien que **D4** ne fait pas partie de l'art antérieur au sens du PCT dans la mesure où ce document a été accessible au public à une date située entre la date de priorité (06.12.1999) dûment revendiquée et la date de dépôt de la demande (18.08.2000), l'IPEA informe qu'il ne fera pas non plus partie de l'art antérieur au sens de l'**Article 54(2)** de la convention lors de l'entrée en phase régionale auprès de l'OEB.

3. **Nouveauté (Article 33(2) PCT) :**

**D2** (page 7259, composé 5) décrit un peptide portant un groupe hydrazide acétylé sur l'amine epsilon d'une lysine en position N-terminale du peptide.

**D1** et **D5** décrivent des peptides hydrazones tandis que **D3** décrit des peptides hydrazines. De ce fait, la nouveauté des **revendications 1-16** de la demande n'est pas affectée par ces documents.

De plus la Demanderesse est informée que le sujet de la **revendication 17** peut être considéré comme nouveau à la vue des documents cités comme cela a été évoqué lors de la première communication.

4. **Activité inventive (Article 33(3) PCT) :**

**D2**, qui représente l'art antérieur le plus rapproché, concerne la préparation de peptide-hydrazones en vue de permettre le transport des peptides modifiés à travers la membrane cytoplasmique de cellules intactes. Les produits de la présente demande se distinguent de **D2** par la nature du groupe modifiant le peptide qui est un groupe hydrazide.

Le problème à résoudre par la présente demande consiste en la préparation de peptides modifiés de telle manière à faciliter leur transport dans la cellule.

Comme cela a été argumenté par la Demanderesse, l'enseignement spécifique de **D2** porte sur un procédé de ligation hydrazone en solution entre un peptide et un

aldéhyde. La formation de dérivés hydrazides, comme le composé 5 de **D2**, n'étant pas le but de ce document, mais un intermédiaire dans la formation de liaisons hydrazones, il n'est pas attendu de la personne de l'art d'utiliser l'enseignement de **D2** pour former des dérivés peptides hydrazides dans le but d'acheminer un peptide dans une cellule. Il est reconnu que ce faisant la personne de l'art ferait preuve d'activité inventive.

De ce fait, les **revendications 1-16** de la demande satisfont aux exigences de l'**Article 33(3) du PCT**.

L'objet de la **revendication 18** n'étant ni divulgué ni suggéré dans les documents cités, cette revendication satisfait aux conditions de l'**Article 33(3) du PCT**.

essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un composé A sélectionné dans le groupe constitué par les lipides, les sucres, les alcools et les marqueurs de fluorescence.

Selon une disposition préférée de ce mode de réalisation, le peptide modifié selon la présente invention est un oligopeptide essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un lipide sélectionné dans le groupe constitué par les acides gras saturés, les acides gras insaturés et les stérols.

De préférence, ledit oligopeptide selon l'invention est essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un lipide sélectionné dans le groupe constitué par l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide cis-9,10-époxy-stéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et le cholestérol.

La stabilité du lien hydrazide rend les peptides modifiés selon l'invention particulièrement intéressants, puisque le lien hydrazide est stable aussi bien *in vivo* que dans une gamme de pH très large. En outre, le lien hydrazide est stable dans des conditions d'hydrogénation catalytique, ce qui permet, par exemple dans le cas de peptides modifiés par des acides gras insaturés, la synthèse de lipopeptides marqués au tritium au niveau de la chaîne grasse, utiles pour un suivi radioactif intracellulaire desdits lipopeptides et une meilleure compréhension de leur mécanisme d'action.

La présente invention a également pour objet un vaccin synthétique et un réactif de diagnostic qui comprennent au moins un peptide modifié selon la présente invention, tel que décrit ci-dessus.

La présente invention a également pour objet l'utilisation du procédé de couplage conforme à l'invention, tel que décrit ci-dessus, pour la préparation d'un médicament comprenant un principe actif de nature peptidique vectorisé, utile pour le ciblage cellulaire.

La présente invention a, en outre, pour objet l'utilisation de l'acide N,N'-tri(Boc)hydrazinoacétique ou de l'acide N,N'-di(Boc)hydrazinoacétique pour fonctionnaliser un peptide destiné à être couplé conformément au procédé de couplage ci-dessus, dans le cas où le groupement hydrazine porté par le peptide est un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique, et ce préalablement à l'étape b), par un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique, soit au niveau de l'extrémité N-terminale dudit peptide, soit au niveau de l'extrémité de la chaîne latérale d'une lysine ou d'une ornithine éventuellement présente à un endroit quelconque de la séquence peptidique.

BEST AVAILABLE COPY



## REVENDECATIONS

1°) Procédé de couplage entre un peptide et au moins un composé A, de nature non peptidique, portant une fonction sélectionnée dans le groupe constitué par les fonctions acide carboxylique et les fonctions alcool, caractérisé en ce que ledit couplage comprend une étape de réalisation, en solution, d'un lien hydrazide entre ledit peptide et ledit composé A.

2°) Procédé de couplage selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend, pour réaliser ledit lien hydrazide, les étapes suivantes :

a) activation de la fonction portée par ledit composé A en une fonction réactive correspondante, respectivement sélectionnée dans le groupe constitué par les fonctions esters et les fonctions carbonate, lorsque le composé A porte respectivement une fonction acide carboxylique et une fonction alcool ; et

b) réaction, en solution et à un pH inférieur à 6, entre ledit composé A activé obtenu en a) et un peptide, totalement déprotégé, portant au moins un groupement hydrazine ou dérivé d'hydrazine soit au niveau de son extrémité N-terminale, soit au niveau de l'extrémité de la chaîne latérale d'une lysine ou d'une ornithine éventuellement présente à un endroit quelconque de la séquence peptidique.

3°) Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend, en outre, une étape c) de purification du peptide modifié obtenu à l'étape b).

4°) Procédé selon la revendication 2 ou la revendication 3, caractérisé en ce que, après l'étape a) d'activation de la fonction portée par le composé A, la fonction réactive correspondante portée par le composé A est sélectionnée dans le groupe constitué par les esters et les carbonates de succinimidyle, de sulfosuccinimidyle et d'aryle.

5°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce que ledit groupement dérivé d'hydrazine portée par le peptide est un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique.

6°) Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que, préalablement à l'étape b), ledit peptide est fonctionnalisé par un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique, soit au niveau de son extrémité N-terminale, soit au niveau de l'extrémité de la chaîne latérale d'une lysine ou d'une ornithine éventuellement présente à un endroit quelconque de la séquence peptidique, à l'aide de l'acide N,N'-tri(Boc)hydrazinoacétique ou de l'acide N,N'-di(Boc)hydrazinoacétique.

7°) Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la fonctionnalisation dudit peptide par un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique est suivie d'une étape de purification dudit peptide fonctionnalisé par chromatographie liquide haute performance, à l'aide d'un éluant constitué d'un mélange eau/alcool, de préférence un mélange eau/isopropanol, comprenant de l'acide trifluoroacétique.

8°) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que ledit composé A est sélectionné dans le groupe constitué par les lipides, les sucres, les alcools et les marqueurs de fluorescence.

9°) Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que lesdits lipides sont sélectionnés dans le groupe constitué par les acides gras saturés, les acides gras insaturés et les stérols.

10°) Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que lesdits lipides sont sélectionnés dans le groupe constitué par l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide cis-9,10-époxystéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et le cholestérol.

11°) Peptide modifié, caractérisé en ce qu'il est essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un composé A sélectionné dans le groupe constitué par les lipides, les sucres, les alcools et les marqueurs de fluorescence.

12°) Peptide modifié selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un oligopeptide essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un lipide sélectionné dans le groupe constitué par les acides gras saturés, les acides gras insaturés et les stérols.

13°) Peptide modifié selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un oligopeptide essentiellement constitué d'un peptide lié, par un lien hydrazide, à au moins un lipide sélectionné dans le groupe constitué par l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide cis-9,10-époxystéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et le cholestérol.

14°) Vaccin synthétique, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un peptide modifié selon l'une quelconque des revendications 11 à 13.

15°) Réactif de diagnostic, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un peptide modifié selon l'une quelconque des revendications 11 à 13.

16°) Utilisation du résidu du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 pour la préparation d'un médicament comprenant un principe actif de nature peptidique vectorisé, utile pour le ciblage cellulaire.

17°) Utilisation de l'acide N,N'-tri(Boc)hydrazinoacétique ou de l'acide N,N'-di(Boc)hydrazinoacétique pour fonctionnaliser un peptide destiné à être couplé conformément au procédé selon la revendication 5, et ce préalablement à l'étape b), par un groupement  $\alpha$ -hydrazinoacétique, soit au niveau de l'extrémité N-terminale dudit peptide, soit au niveau de l'extrémité de la chaîne latérale d'une lysine ou d'une ornithine éventuellement présente à un endroit quelconque de la séquence peptidique.